CORSO INTEGRATO DI GENETICA

a.a. 2011-2012

20/10/2011

Lezioni 17 e 18

Genetica dei tumori

Dott.ssa Elisabetta Trabetti

Cancro: origine genetica?

Evidenze:

- > 50 forme tumore – predisposizione ereditaria
- molte sostanze cancerogene sono mutagene
- virus che trasportano geni mutati inducono tumore
- riarrangiamenti cromosomici in alcune forme di tumore
- origine clonale

Cancro: origine genetica?

Il DNA delle cellule tumorali determina il fenotipo:

- **linee cellulari normali -> tumorali solo se transfettate con DNA di cell tumorali e non normali**
- **individui con difetti dei meccanismi sull'integrità genomica hanno > incidenza di tumori**

Mutazione = comune denominatore di tutte le forme di cancro

Cancro è un disordine genetico che agisce a livello cellulare (malattia genetica somatica)

THEODOR BOVERI (1862-1915)

Un'altra possibilità è che in ogni cellula normale esista un meccanismo specifico di inibizione, che consenta il processo di divisione cellulare solo

qu… uno stimolo specifico. La presenza di

cr… divisione si accorderebbe al meglio

co… .*che le cellule tumorali con una*

c… lo dopo l'eliminazione di questi

"cromosomi inibitori" ……… d'altra parte, *l'ipotesi di cromosomi che promuovano la divisione potrebbe anch'essa soddisfare questo postulato*.

… controllata ad una rapida proliferazione delle cellule

… bbe quindi derivata *dall'acquisizione di un predominio*

… dei cromosomi che promuovono la divisione.

geni oncosoppressori

oncogèni

Gelerther-Collins-Ginsburg 1999

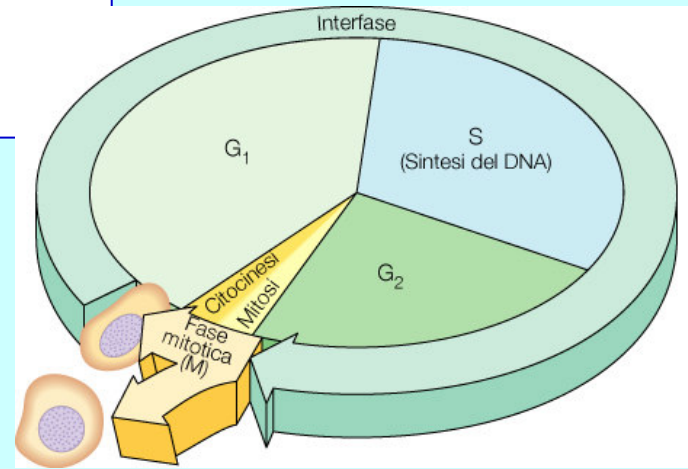
tumore

- Crescita abnorme tessuto
- T. benigno circoscritto
- Crescita non-invasiva - No diffusione altri tessuti

Interferiscono con la funzionalità degli organi vicini

cancro

- T. maligno
- Origine clonale (di solito cell. somatica)
- Serie di alterazioni genetiche successive
- Invasivo e metastatico

Proliferazione cellulare
normalmente sotto controllo genetico

CANCEROGENESI

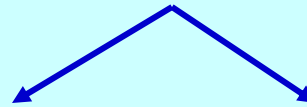
⇓

Mutazione somatica
crea una variante che
prolifera più velocemente … altre mutazioni

Il clone mutato
tende ad espandersi
fino ad invadere l'organismo

Meccanismi difensivi

Sofisticati meccanismi collegati tra loro in grado di proteggerci dai tumori, almeno fino all'età riproduttiva

Le cellule potenzialmente tumorali

Riparate e rimesse sulla buona strada

Indotte a suicidarsi (apoptosi)

Nessuna singola mutazione può eludere questi meccanismi e trasformare da sola una cellula normale in una maligna

NUOVE SUCCESSIVE MUTAZIONI

Categorie di geni

Le mutazioni tumorali interessano geni che controllano la nascita (*ciclo cellulare*) o la morte (*apoptosi*) delle cellule, o che sorvegliano l'integrità del genoma

"*sentinella e custode*"

- **ONCOGENI**
- **GENI ONCOSOPPRESSORI (soppressori di tumore, TS)**
- **GENI MUTATORI**

Categorie di geni

Le mutazioni tumorali interessano geni che controllano la nascita (*ciclo cellulare*) o la morte (*apoptosi*) delle cellule, o che sorvegliano l'integrità del genoma
"*sentinella e custode*"

- **ONCOGENI**
- GENI ONCOSOPPRESSORI (soppressori di tumore, TS)
- GENI MUTATORI

ONCOGENI

Geni la cui azione promuove positivamente la proliferazione cellulare

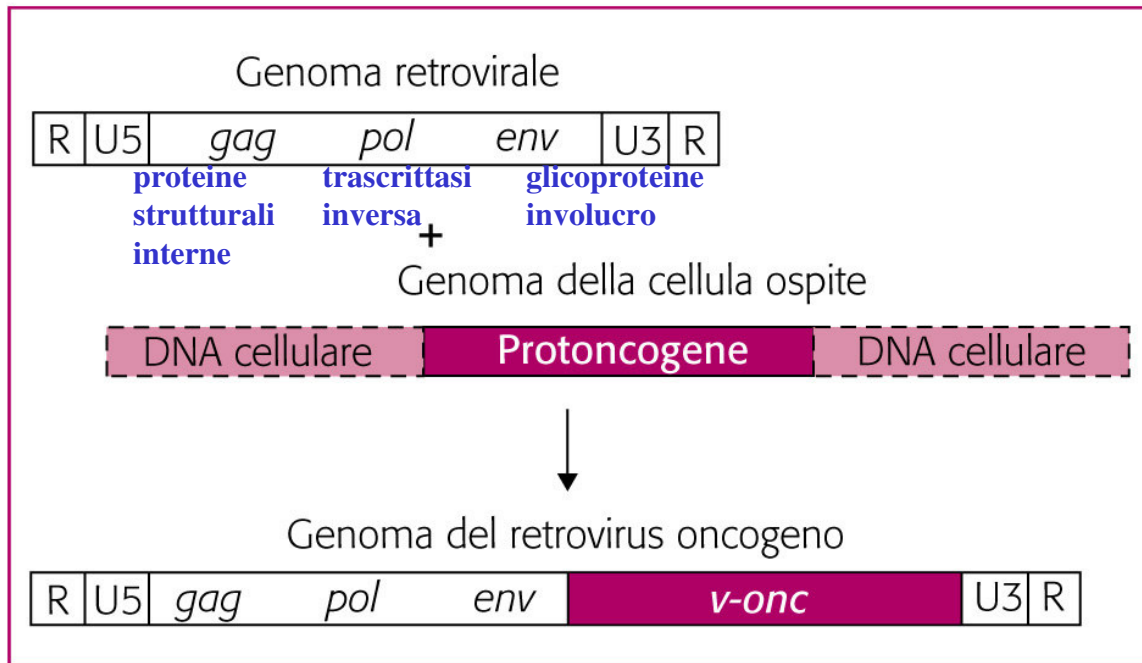
m. (acquisizione di funzione) crea un gene attivo in modo eccessivo o improprio

1 solo allele m. può influenzare il fenotipo cellulare

Rappresentano versioni mutate di geni coinvolti in varie e normali funzioni cellulari

Protoncogene → oncogène

oncogène → oncogene attivato

HRAS – omologia con sequenza in retrovirus oncogeno

Neri G, Genuardi M. Genetica umana e medica. Elsevier Masson, Milano, 2007

UOMO:

Retrovirus oncogeni

- HTLVI

Virus oncogeni a DNA

sequenze trasformanti uniche

↓

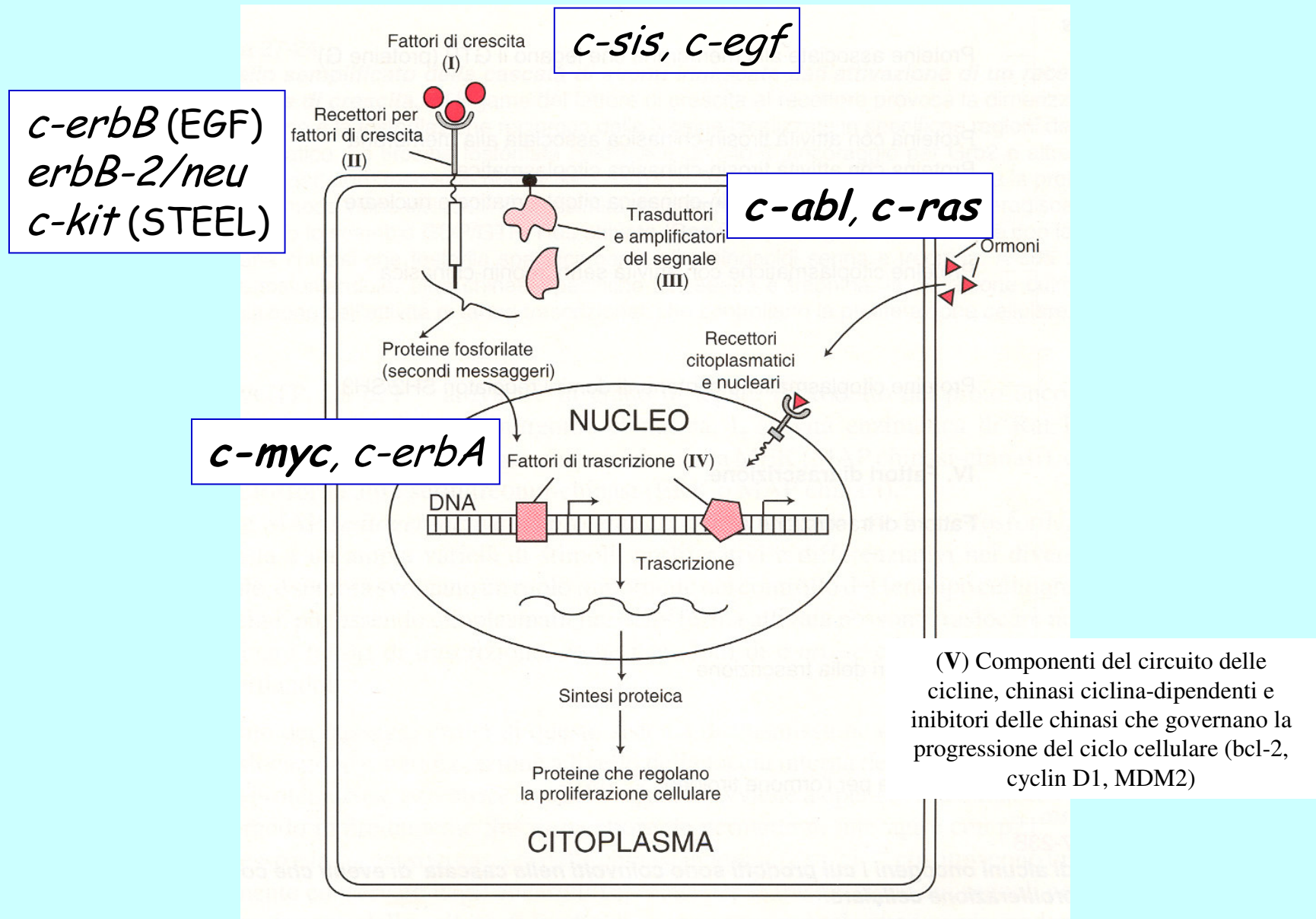
- Adenovirus o. - proteina E1A
- HPV-16 – proteina E7

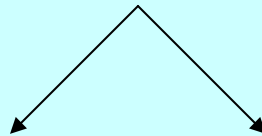
Inibiscono p110 - RB1

Rimuovono il blocco alla progressione del ciclo cell

Retrovirus trasformanti, specie affette, tumore, oncogene responsabile

Virus	Species	Virus-induced tumour	Oncogene
Rous sarcoma	Chicken	Sarcoma	*src*
Avian erythroblastosis	Chicken	Erythroleukaemia	*erb*-B
Avian myeloblastosis	Chicken	Myeloblastic leukaemia	*myb*
Avian myelocytomatosis	Chicken sarcoma	Myelocytoma, sarcoma	*myc*
Abelson leukaemia	Mouse	Pre-B cell leukaemia	*abl*
FBJ murine osteosarcoma	Mouse	Osteosarcoma	*fos*
Moloney murine sarcoma	Mouse	Sarcoma	*mos*
Harvey murine sarcoma	Rat	Sarcoma	*Ha-ras*
Kirsten murine sarcoma	Rat	Sarcoma	*Ki-ras*
Simian sarcoma	Monkey	Sarcoma	*sis*

Localizzazione e funzioni delle proteine codificate dagli oncogeni

Attivazione dei protoncogeni

L'attivazione implica l'acquisizione di una funzione

quantitativa

Aumentata produzione
Prodotto non modificato

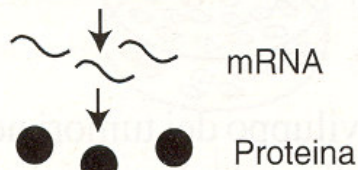
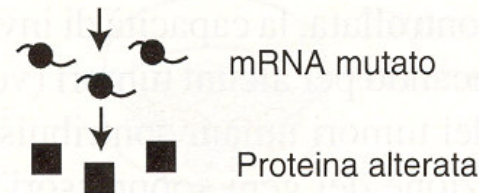
qualitativa

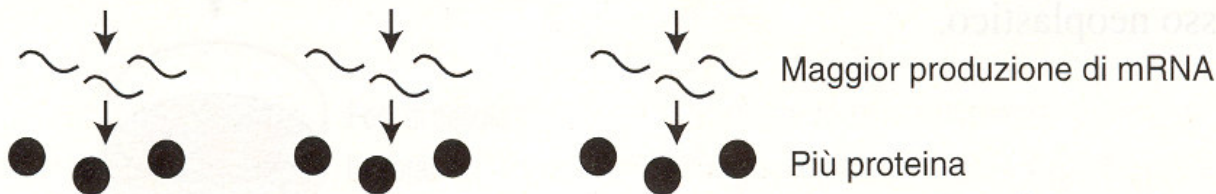
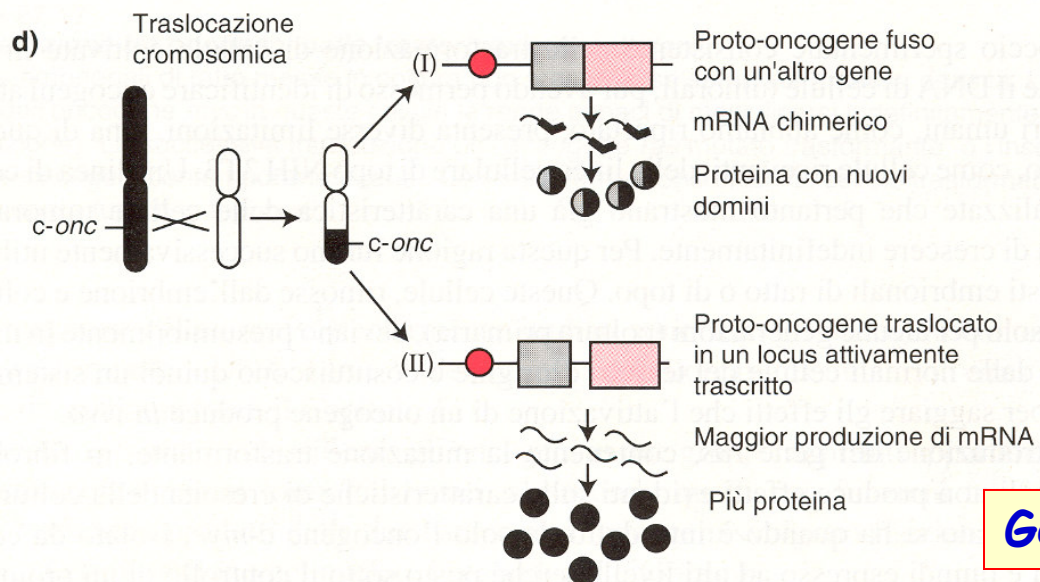
- Prodotto modificato a causa di una m.
- Nuovo prodotto da un gene chimerico

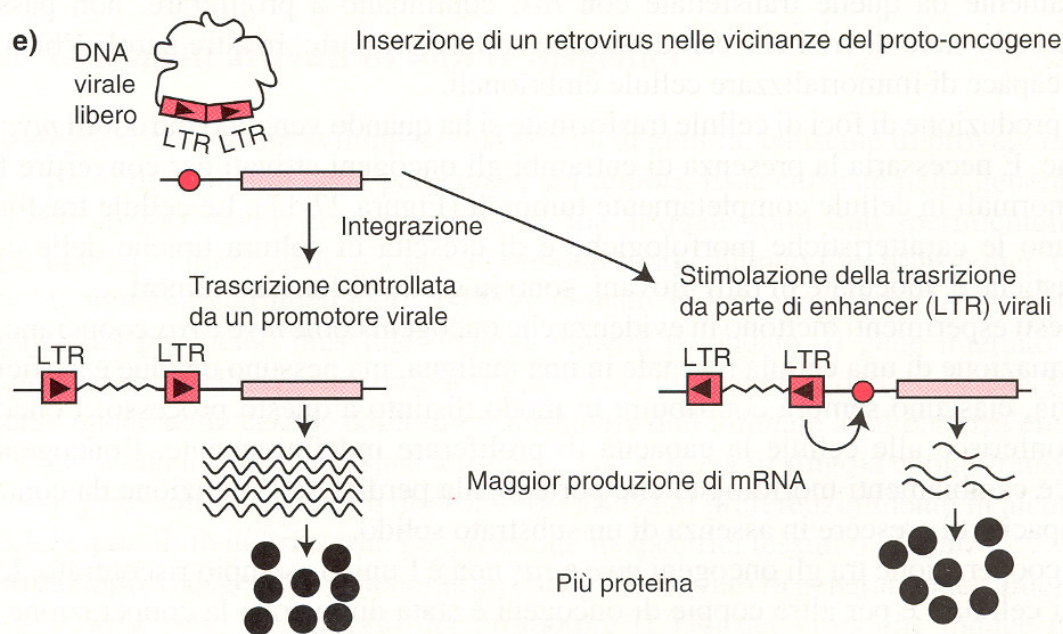
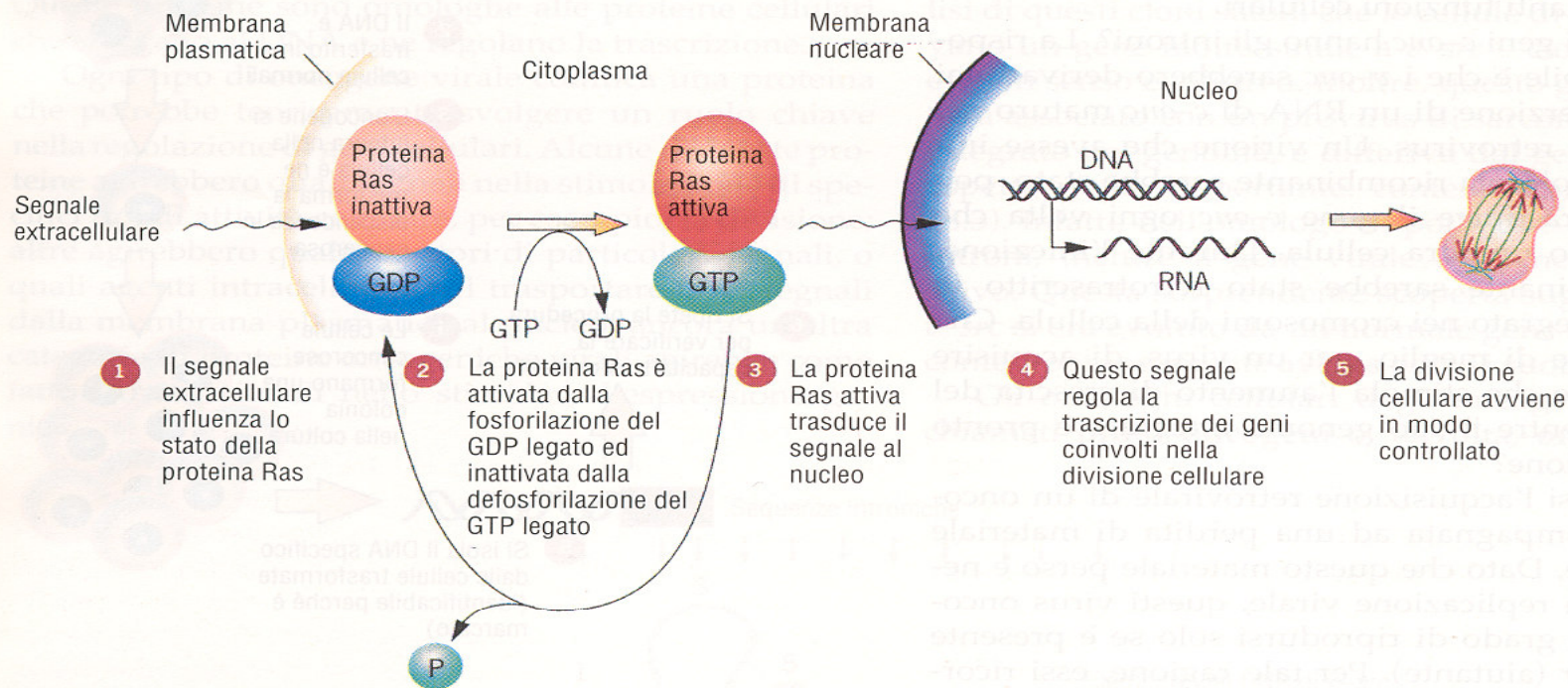
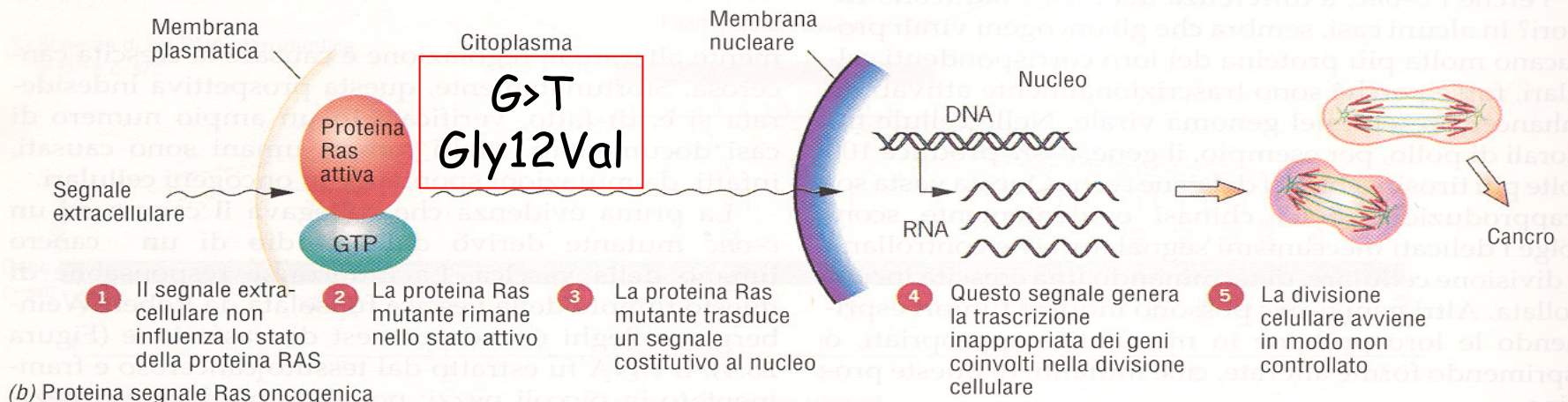
Effetto dominante, interessano un allele

EVENTI SOMATICI
Eccez. m. p.tiformi oncogene *ret* (carcinoma familiare della tiroide, talvolta ereditate)

m. non attivanti in protoncogeni: ereditate se l'effetto non è associato a cancerogenesi (c-onc *kit* e piebaldismo, c-onc *ret* e malattia di Hirschsprung)

Meccanismi d'azione di un c-onc

m. puntiformi, delezioni

gene ras – tumore colon, polmone, mammella, vescica

gene erbB2, myc – tumore mammella
gene N-myc – neuroblastomi fase avanzata

Geni bcr-abl in CML

Gene myc in linfoma di Burkitt

Proteina RAS e cancro

(a) Normale proteina segnale Ras

(b) Proteina segnale Ras oncogenica

Traslocazione cromosomica e Cromosoma Ph

a) 9 22 9 q+ 22 q- (Ph[1])

bcr 5' 3' q11

c-abl 5' 3' q34

bcr abl 5' 3'

bcr 3'

b) 5' c-abl 3'

Cr. 9

Regioni contenenti i punti di rottura

Cr. 22

5' 3' bcr

Traslocazione

nuovo gene bcr-abl

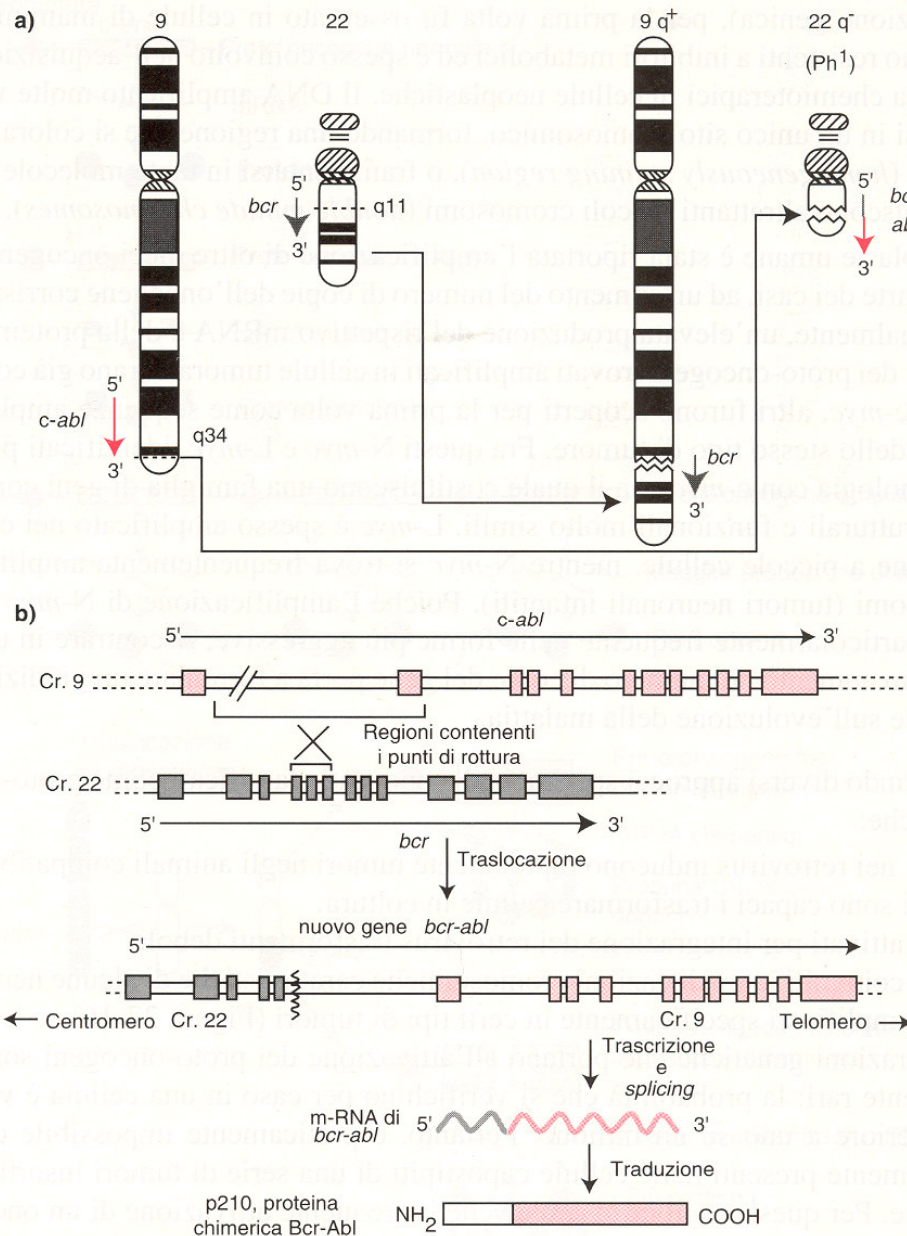
5'

Centromero Cr. 22 Cr. 9 Telomero

Trascrizione e *splicing*

m-RNA di *bcr-abl* 5' 3'

Traduzione

p210, proteina chimerica Bcr-Abl NH_2 COOH

CML

m. qualitativa in t(9;22)

Il gene di fusione *bcr-abl* sul chr Ph codifica una tirosino chinasi che non risponde ai normali controlli, costitutivamente attiva

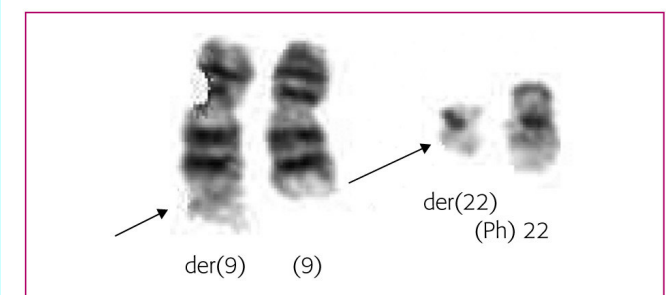
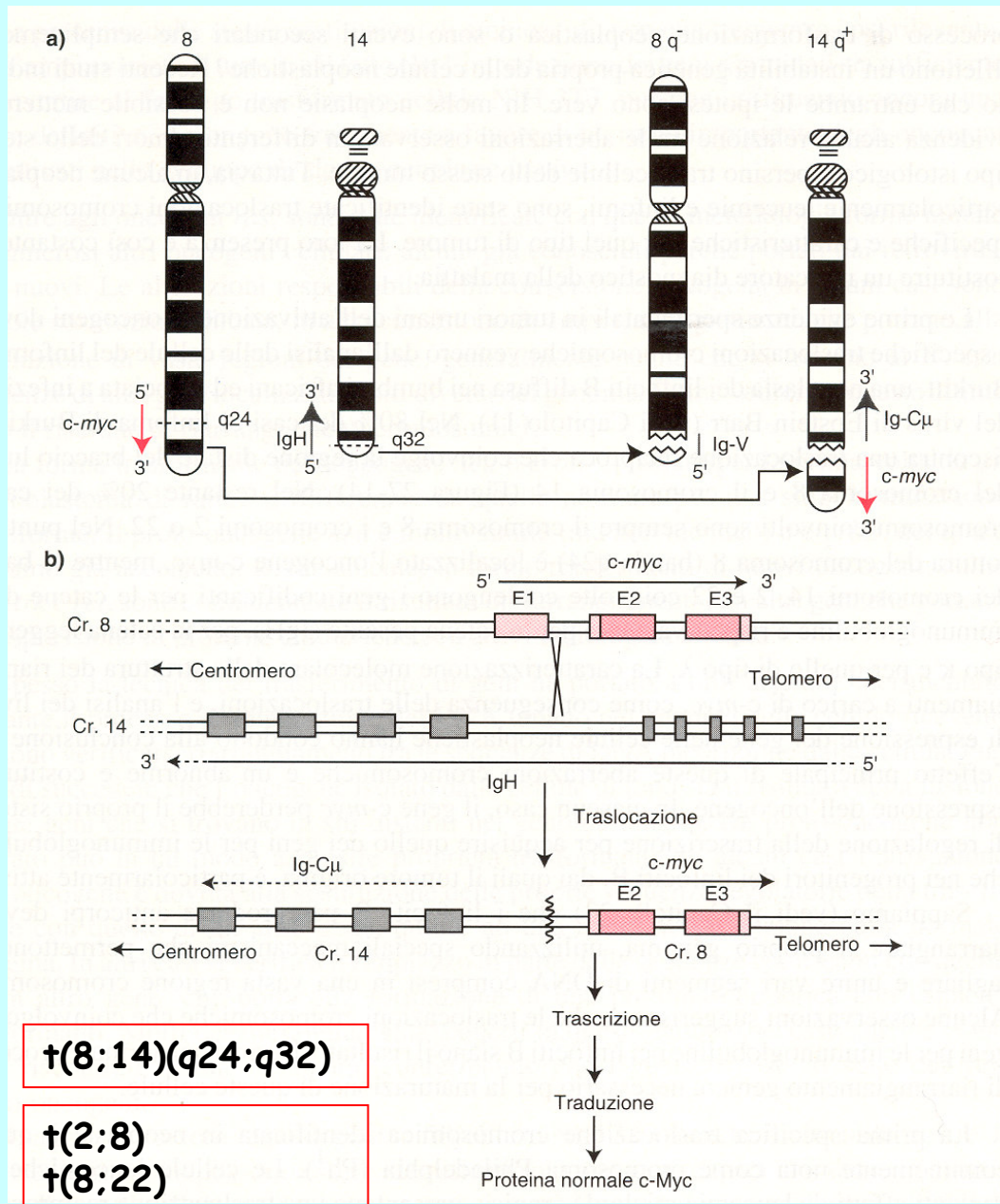



Figura 10.1 Traslocazione t(9;22)(q34;q11) nella leucemia mieloide cronica (bandeggio GTG). La freccia indica i cromosomi coinvolti nella traslocazione.

Neri G, Genuardi M. Genetica umana e medica. Elsevier Masson, Milano, 2007

Attivazione c-myc per traslocazione cromosomica

Linfoma di Burkitt

80% chr8 e chr 14 (H)
20% chr8 e chr 2 o 22
(Lκ) (Lλ)

C-myc perde il proprio sistema di regolazione della trascrizione ed acquisisce quello dei geni delle Ig

Molto attivo in cell progenitrici linfociti B

Abnorme e costitutiva espressione di c-myc

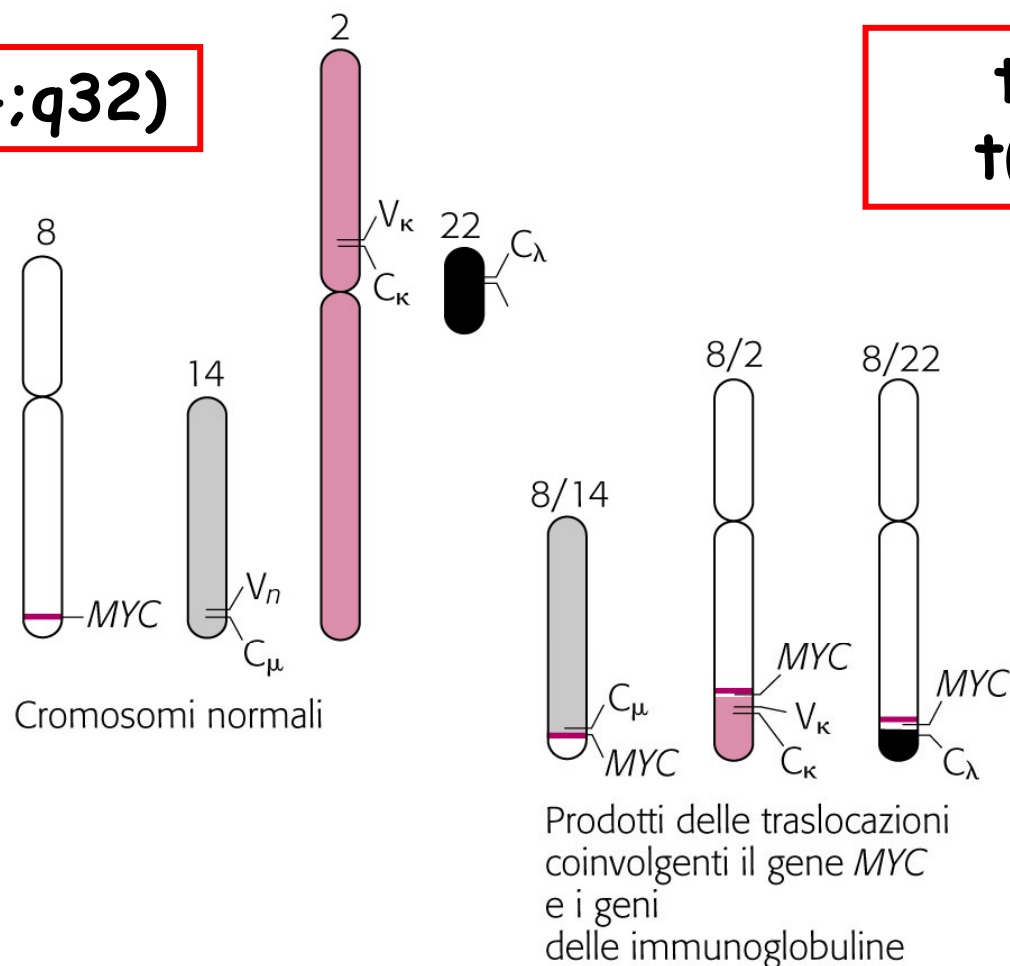



Figura 10.3 Schema delle traslocazioni tra il gene *MYC* e i geni delle immunoglobuline associate al linfoma di Burkitt e alla leucemia linfatica acuta di tipo L3. A sinistra i cromosomi normali, a destra i prodotti delle rispettive traslocazioni. C e V indicano i geni per le porzioni costanti e variabili dei rispettivi cluster delle immunoglobuline.

Neri G, Genuardi M. Genetica umana e medica. Elsevier Masson, Milano, 2007

Gene chimerico – riarrangiamento cancro specifico

Table 17.3: Chimeric genes produced by cancer-specific chromosomal rearrangements

Tumor	Rearrangement	Chimeric gene	Nature of chimeric product
CML	t(9;22)(q34;q11)	*BCR-ABL*	Tyrosine kinase
Ewing sarcoma	t(11;22)(q24;q12)	*EWS-FLI1*	Transcription factor
Ewing sarcoma (variant)	t(21;22)(q22;q12)	*EWS-ERG*	Transcription factor
Malignant melanoma of soft parts	t(12;22)(q13;q12)	*EWS-ATF1*	Transcription factor
Desmoplastic small round cell tumor	t(11;22)(p13;q12)	*EWS-WT1*	Transcription factor
Liposarcoma	t(12;16)(q13;p11)	*FUS-CHOP*	Transcription factor
AML	t(16;21)(p11;q22)	*FUS-ERG*	Transcription factor
Papillary thyroid carcinoma	inv(1)(q21;q31)	*NTRK1-TPM3* (*TRK* oncogene)	Tyrosine kinase
Pre-B cell ALL	t(1;19)(q23;p13.3)	*E2A-PBX1*	Transcription factor
ALL	t(X;11)(q13;q23)	*MLL-AFX1*	Transcription factor
ALL	T(4;11)(q21;q23)	*MLL-AF4*	Transcription factor
ALL	t(9;11)(q21;q23)	*MLL-AF9*	Transcription factor
ALL	t(11;19)(q23;p13)	*MLL-ENL*	Transcription factor
Acute promyelocytic leukemia	t(15;17)(q22;q12)	*PML-RARA*	Transcription factor + retinoic acid receptor
Alveolar rhabdomyosarcoma	t(2;13)(q35;q14)	*PAX3-FKHR*	Transcription factor

CML, chronic myeloid leukemia; ALL, acute lymphoblastoid leukemia; AML, acute myelogenous leukemia.

Note how the same gene may be involved in several different rearrangements. For further details see Rabbitts (1994).

Categorie di geni

Le mutazioni tumorali interessano geni che controllano la nascita (*ciclo cellulare*) o la morte (*apoptosi*) delle cellule, o che sorvegliano l'integrità del genoma

"*sentinella e custode*"

- ONCOGENI
- **GENI ONCOSOPPRESSORI (soppressori di tumore, TS)**
- GENI MUTATORI

GENI ONCOSOPPRESSORI – GENI TS

Geni i cui prodotti inibiscono la proliferazione cellulare

- Impediscono la progressione del ciclo cellulare
- Guidano le cellule devianti all'apoptosi

Fattori di crescita, trasduttori di segnali, fattori trascrizionali

I geni TS mutati hanno perduto la loro funzione

↓

Proliferazione incontrollata

Entrambi gli alleli devono essere **INATTIVI** per determinare il cambiamento fenotipo cellulare

m. in entrambe le copie gene TS → *trasformazione neoplastica*

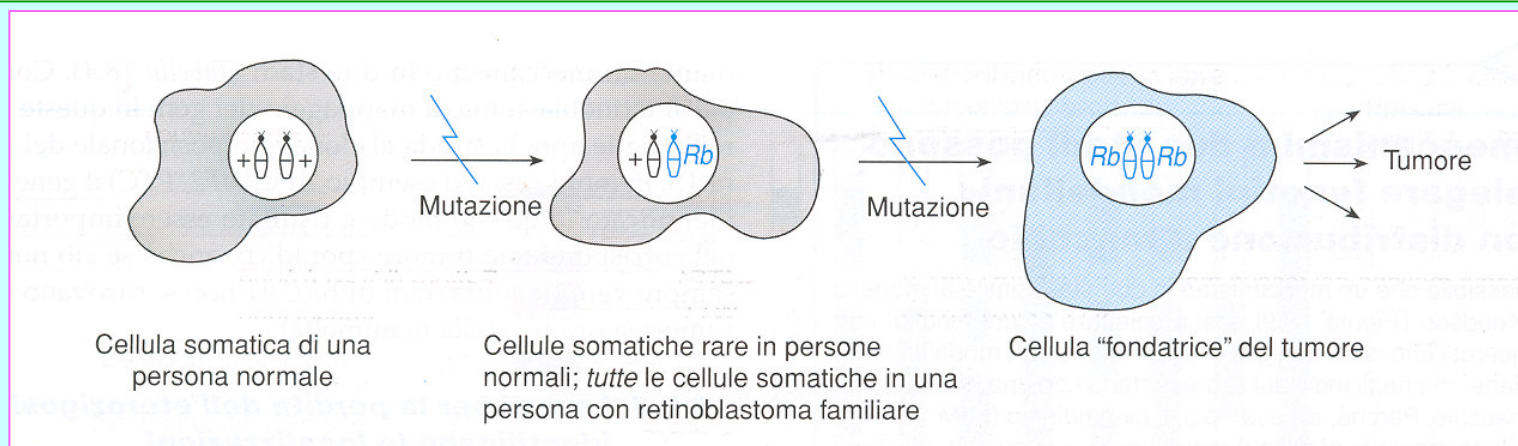
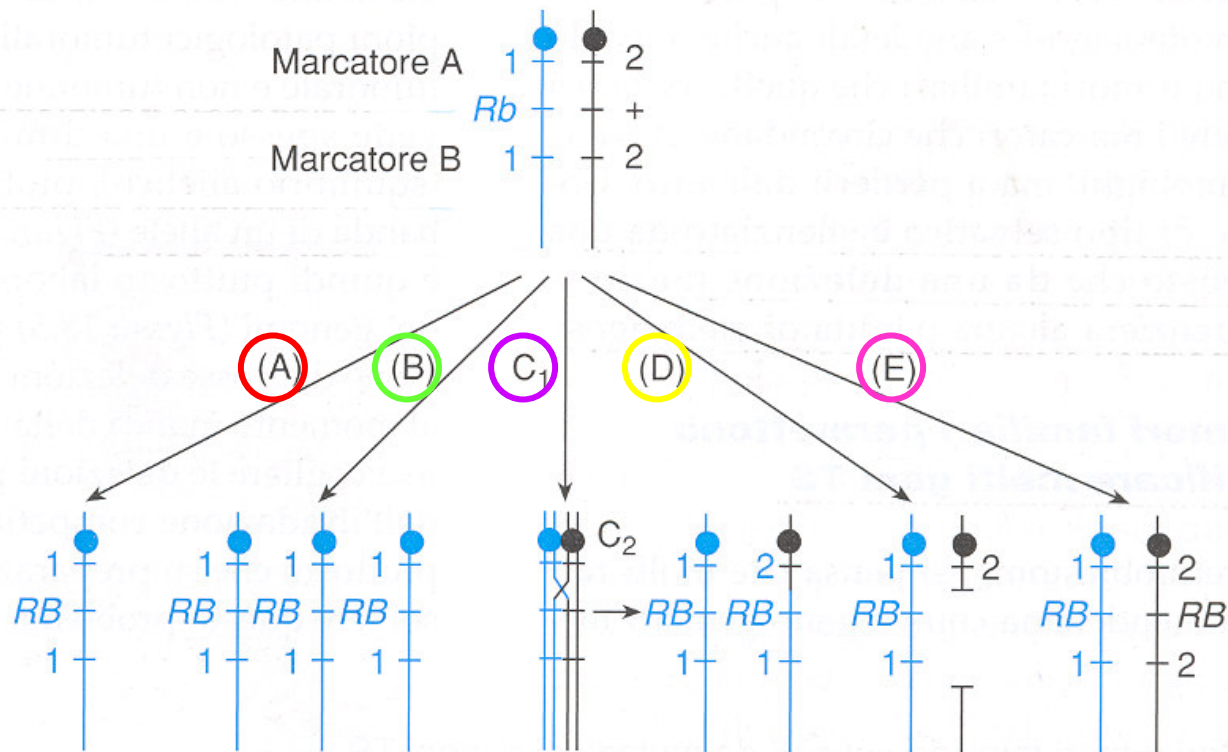
Ipotesi dei due stadi di Knudson

Retinoblastoma (MIM 180200) raro e aggressivo tumore infantile che colpisce la retina (*gene RB1, 13q14;* 1/15.000 nati vivi)

60%
casi sporadici e unilaterali

40%
casi ereditati come caratteri AD p. incompleta (bilaterali)

1971 Knudson: 2 m. successive (2 stadi)
Cellula normale → cellula tumorale

Forme familiari: 1 m. ereditaria

Meccanismi di perdita allele wt nel retinoblastoma

Perdita chr

Perdita chr + duplicazione

Ricombinazione mitotica

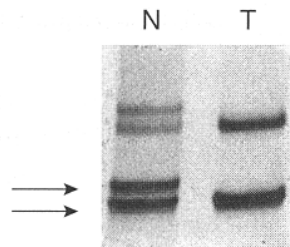
Delezione allele wt

m. p.tiforme patogena in wt

Sia nei casi sporadici che nei familiari:

perdita allele marcatore + mantenimento marcatore

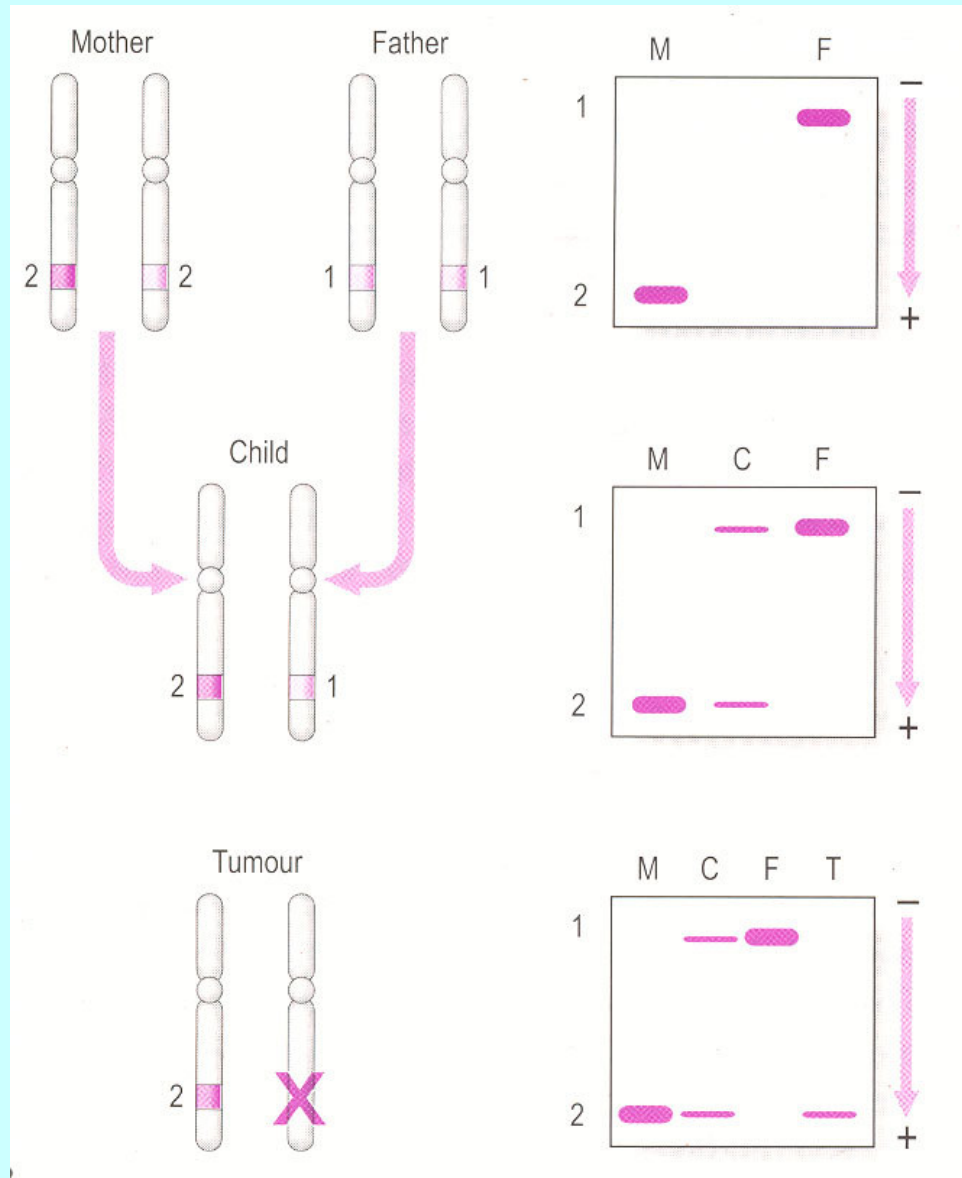
PERDITA DI ETEROZIGOSITA'

LoH = Loss of Heterozigosity

LoH

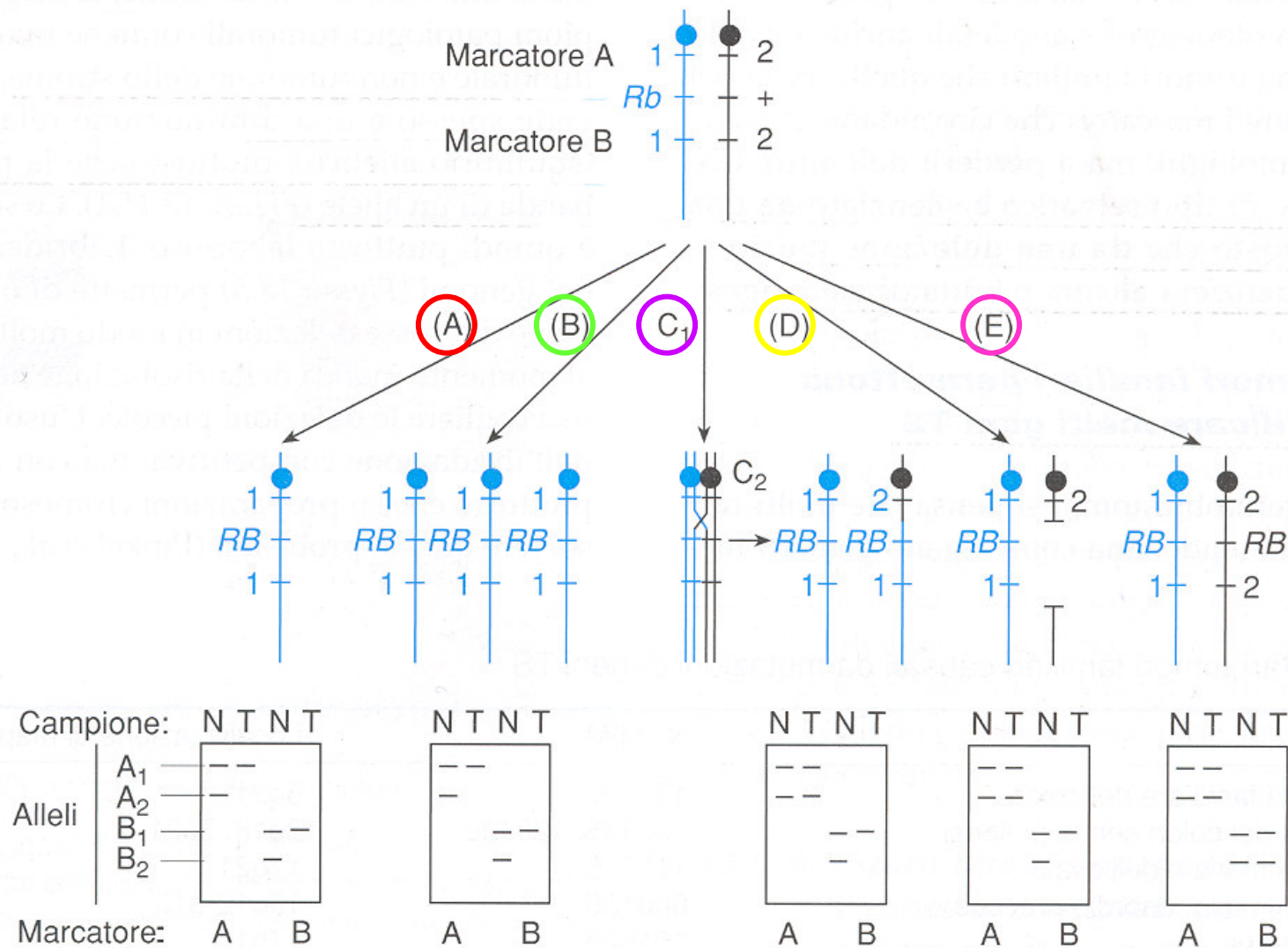
Campioni tumorali contengono miscela tessuto tumorale e non tumorale dello stroma

↓

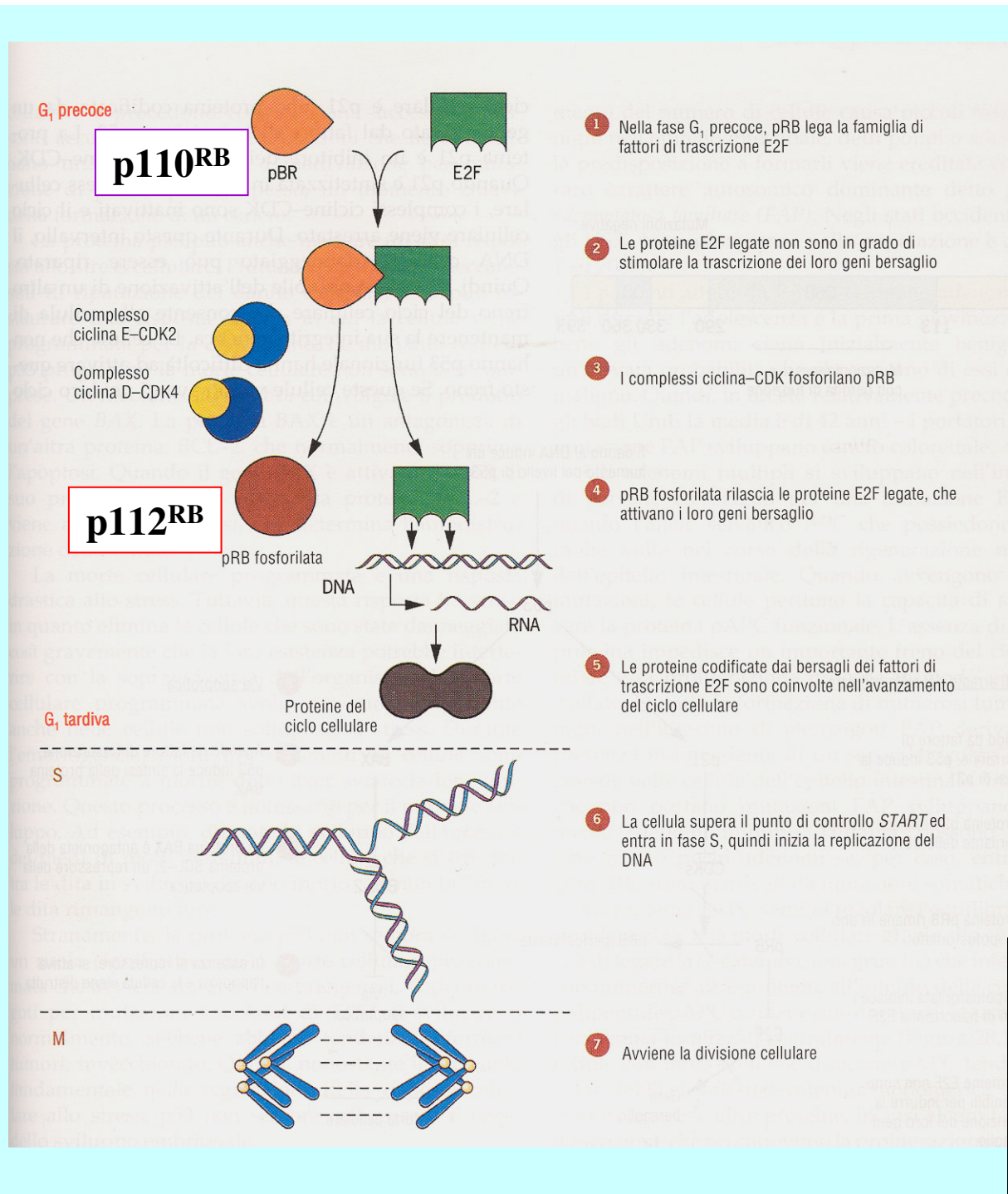
Squilibrio allelico

LoH = Loss of Heterozigosity

C = DNA costituzionale

T = DNA da tessuto tumorale

Meccanismi di perdita allele wt nel retinoblastoma

LOH

LOH

no LOH

Ruolo di pRB nell'avanzamento del ciclo cellulare

Inattivazione del gene RB1

↓

capacità ridotta o assente di pRB di legare E2F

↓

Tolto un freno naturale, E2F liberi di attivare i geni bersaglio

↓

Cellule con tendenza a muoversi rapidamente nel ciclo

\+

Altri freni Falliscono

↓

Divisione incessante cellulare

⇒ tumore

m. in RB1

Osteosarcomi

Leucemie

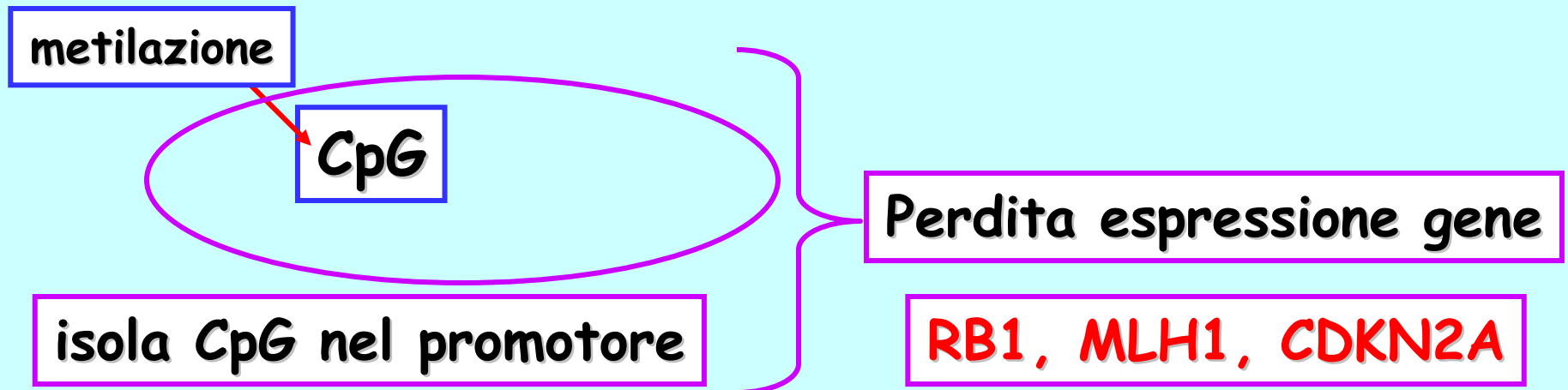
Carcinoma polmone

Tumori mammella e vescica

Rari tumori familiari causati da mutazioni di geni TS

MALATTIA	n° MIM	localizzazione mappa	gene TS
Poliposi adenomatosa familiare colon	175100	5q21	***APC***
Carcinoma della mammella e ovaio	113705	17q21	**BRCA1**
Carcinoma della mammella (esordio precoce)	600185	13q12-q13	**BRCA2**
Retinoblastoma	180200	13q14	**RB1**
Neurofibromatosi 1	162200	17q12-q22	**NF1**
Neurofibromatosi 2	101000	22q12.2	**NF2**
Melanoma familiare	600160	9p21	**CDKN2A**

Silenziamento dei geni TS

- **Delezione** (LoH)
- **Mutazioni puntiformi**
- **Metilazione del DNA** (modifica epigenetica)

Poliposi adenomatosa familiare del colon
FAP o APC

Predisposizione ereditaria al cancro
AD
1:6000,1:13000
~1% casi tumori del colon

Analisi di linkage in famiglie + citogenetica: 5q21-22
LoH
APC (m. proteina tronca) – m. gene APC

1. **Inattivazione APC = condizione necessaria sviluppo polipo**
2. **Altri eventi genetici (attivazione K-ras, inattivazione altri geni TS)**

Tumore ereditario del colon non poliposico HNPCC (sindrome di Lynch)

AD, predisposizione cancro colorettale e altre neoplasie
~1:200
~15% casi tumori intestinali

Eterogeneità genetica:
MSH2 (HNPCC1) 2p15-16
MLH1 (HNPCC2) 3p23-21.3
Instabilità sequenze microsatellite

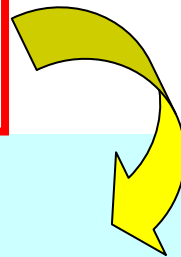
Tessuto neoplastico – tessuto di controllo
DIFFERENZE: CONTRAZIONE/ESPANSIONE DELLE SEQUENZE NEL DNA TUMORALE

"INSTABILITA' GENETICA"
Geni responsabili HNPCC = geni replicazione e/o riparazione DNA
GENI MUTATORI

Categorie di geni

Le mutazioni tumorali interessano geni che controllano la nascita (*ciclo cellulare*) o la morte (*apoptosi*) delle cellule, o che sorvegliano l'integrità del genoma

"*sentinella* e *custode*"

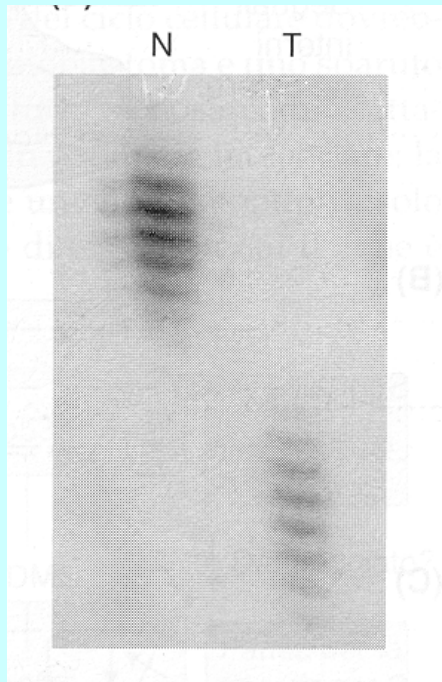
- ONCOGENI
- GENI ONCOSOPPRESSORI (soppressori di tumore, TS)
- **GENI MUTATORI**

Geni che controllano l'integrità del genoma

m. in *gene mutatore*

↓

proteina non garantisce corretta e fedele replicazione DNA

Fenomeno instabilità genetica generalizzata
(e aumentata mutabilità genoma)

Instabilità sequenze microsatellite (MIN o MSI)

hMSH2, 2p16
hMLH1, 3p23-3p21.3
Proteine coinvolte in sistemi riparazione post-replicativa dei non corretti appaiamenti di basi sul DNA (*mismatch repair*)

20%
35-40%

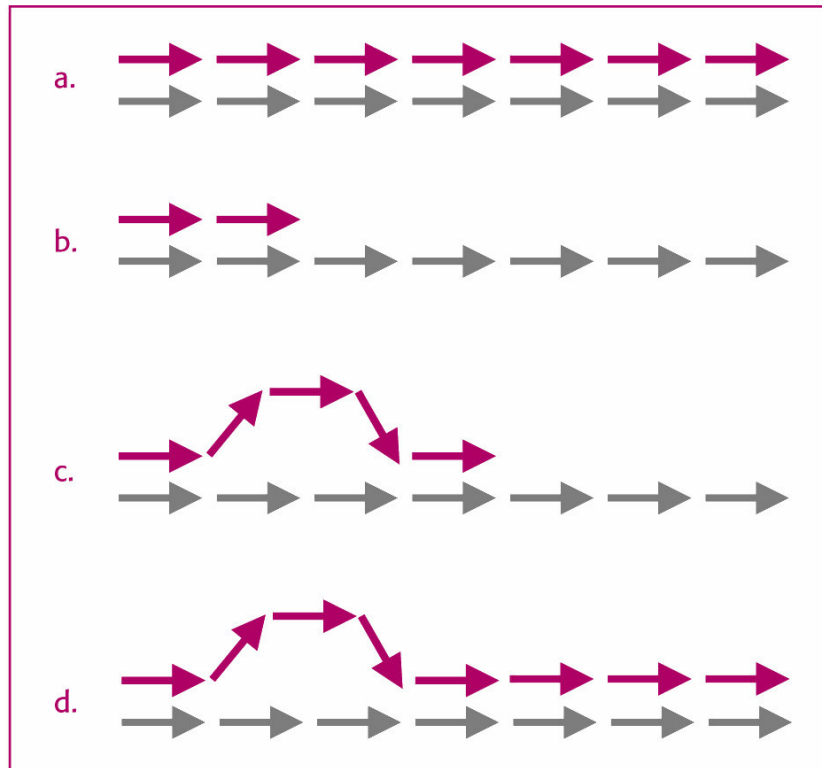
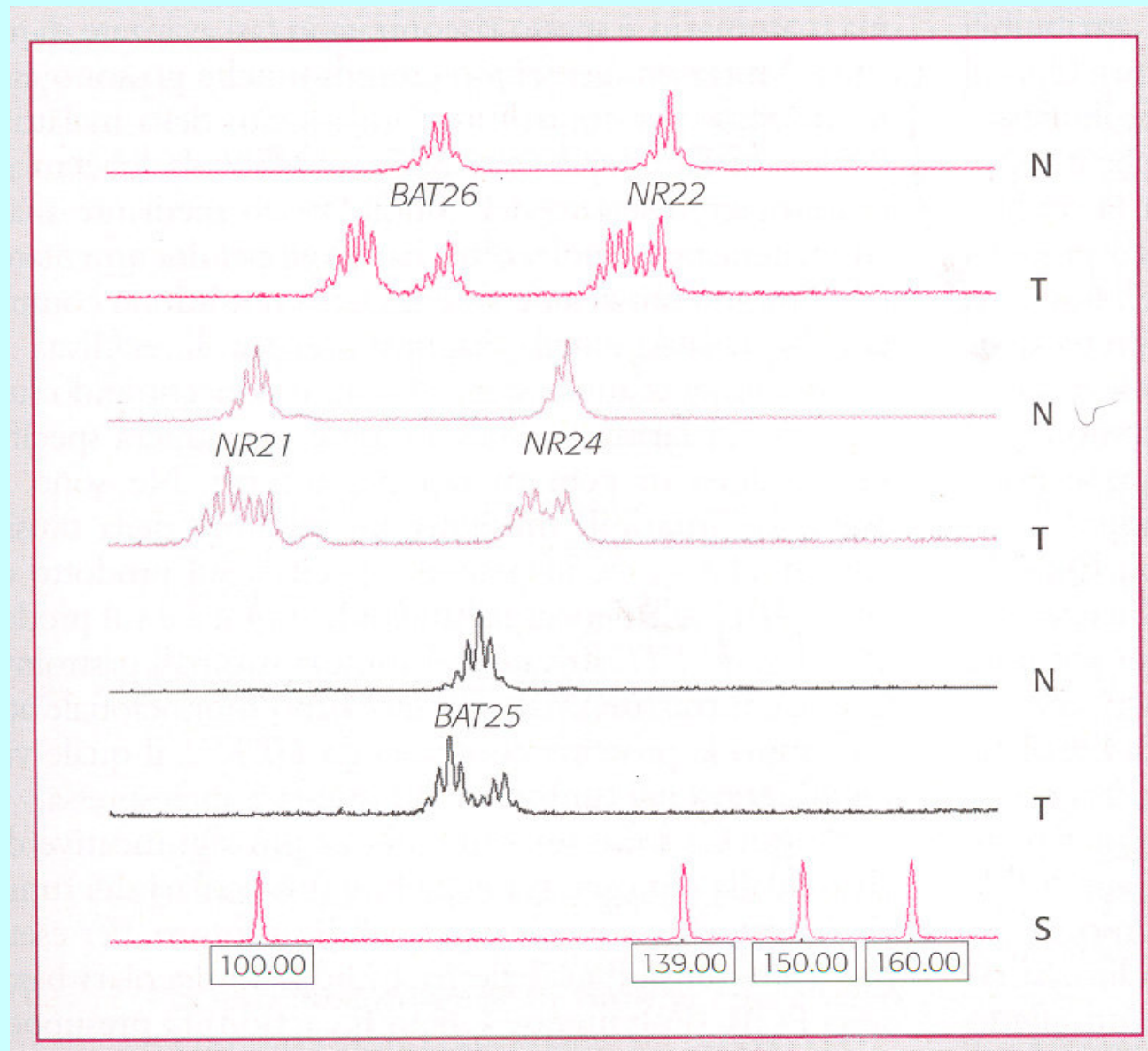
60% fam.HNPCC

Paz. HNPCC costitutivamente eterozigoti m. perdita funzione
Cellule normali: sistema funzionante riparazione
In cellule tumorali: perdita 2ª copia

Replicazione del DNA: fonte endogena di mutazioni
Polimerasi con "attività proofreading"

Geni del sistema del Mismatch Repair (MMR)

- Errati appaiamenti di basi
- Piccole ins/del a livello di STR x scivolamento polimerasi

Neri G, Genuardi M. Genetica umana e medica. Elsevier Masson, Milano, 2007

Instabilità dei microsatelliti (MSI)

INSTABILITÀ GENETICA

Esempi

•Geni del sistema NER

XPA, XPB – Xeroderma pigmentoso

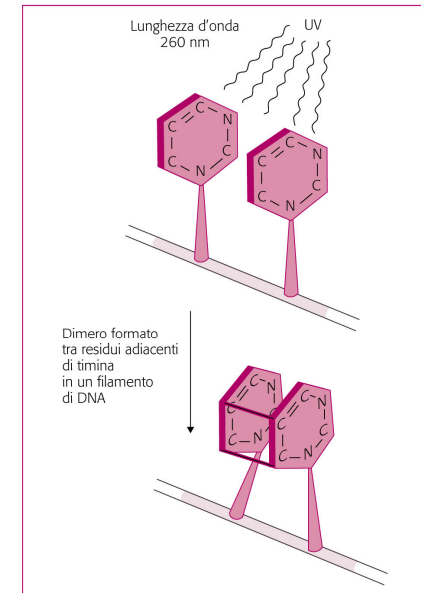



Figura 10.9 La luce ultravioletta provoca la formazione di dimeri di timina. (Modificata da http://www.mun.ca/biology/scarr/T-Tdimer.gif.)

Neri G, Genuardi M. Genetica umana e medica. Elsevier Masson, Milano, 2007

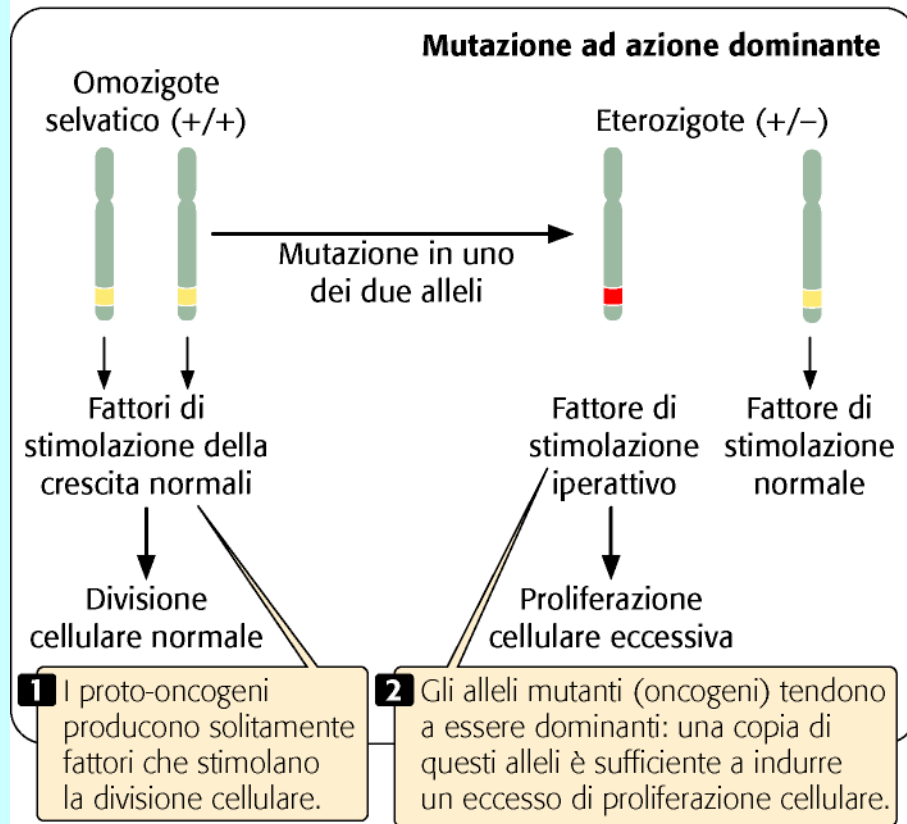
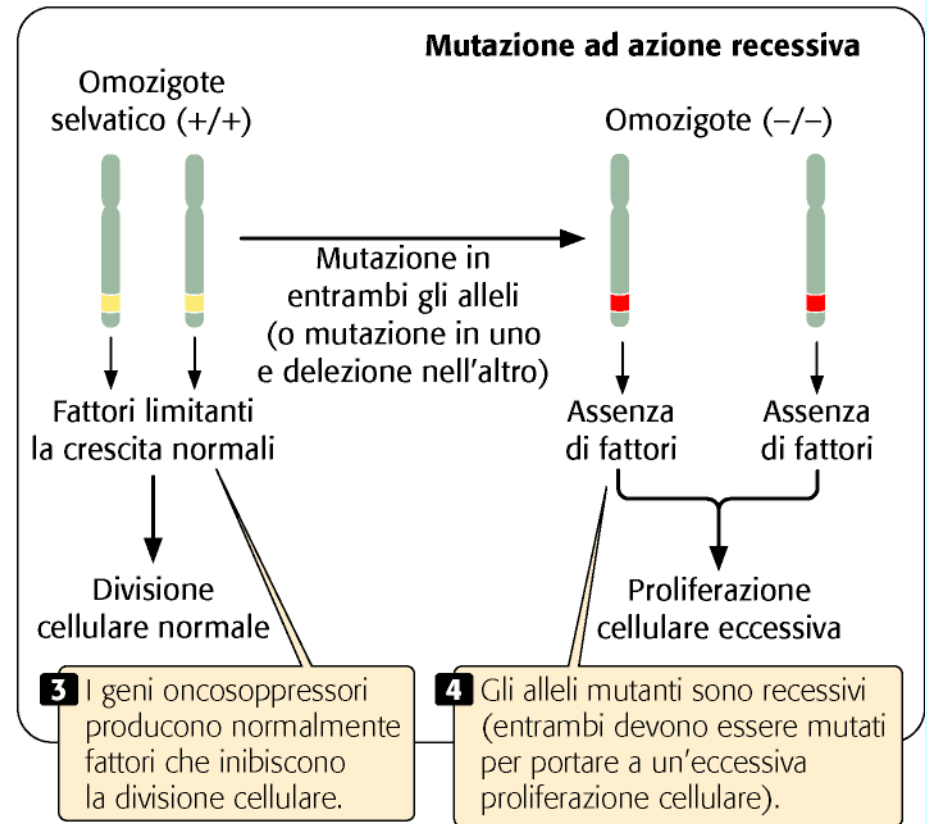
•Geni del sistema di riparo di rotture del DNA

FANCA, FANCB, BRCA2 – Anemia di Fanconi

•Geni del sistema del MMR

MLH1, MSH2 – Tumori del colon

	ONCOGENI	ONCOSOPPRESSORI
Sviluppo del tumore	Guadagno di funzione	Perdita di funzione
Azione a livello cellulare	Dominante	Recessiva
Meccanismo	Attivazione di un allele	Inattivazione di entrambi gli alleli
Presenza m. germinali	NO	SI'

Pierce BA 2005

Cancro: fenomeno raro?

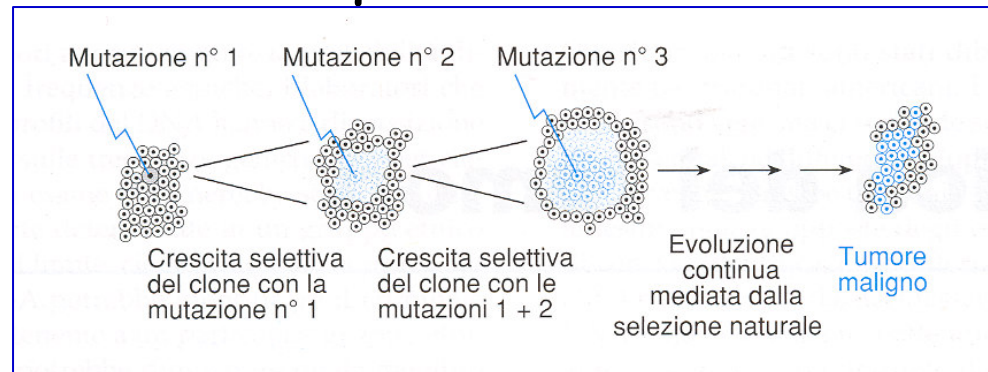
Trasformazione cell normale in tumore maligno: ~ 6 m. successive

Tasso di m. = 10^{-7}/gene/cellula

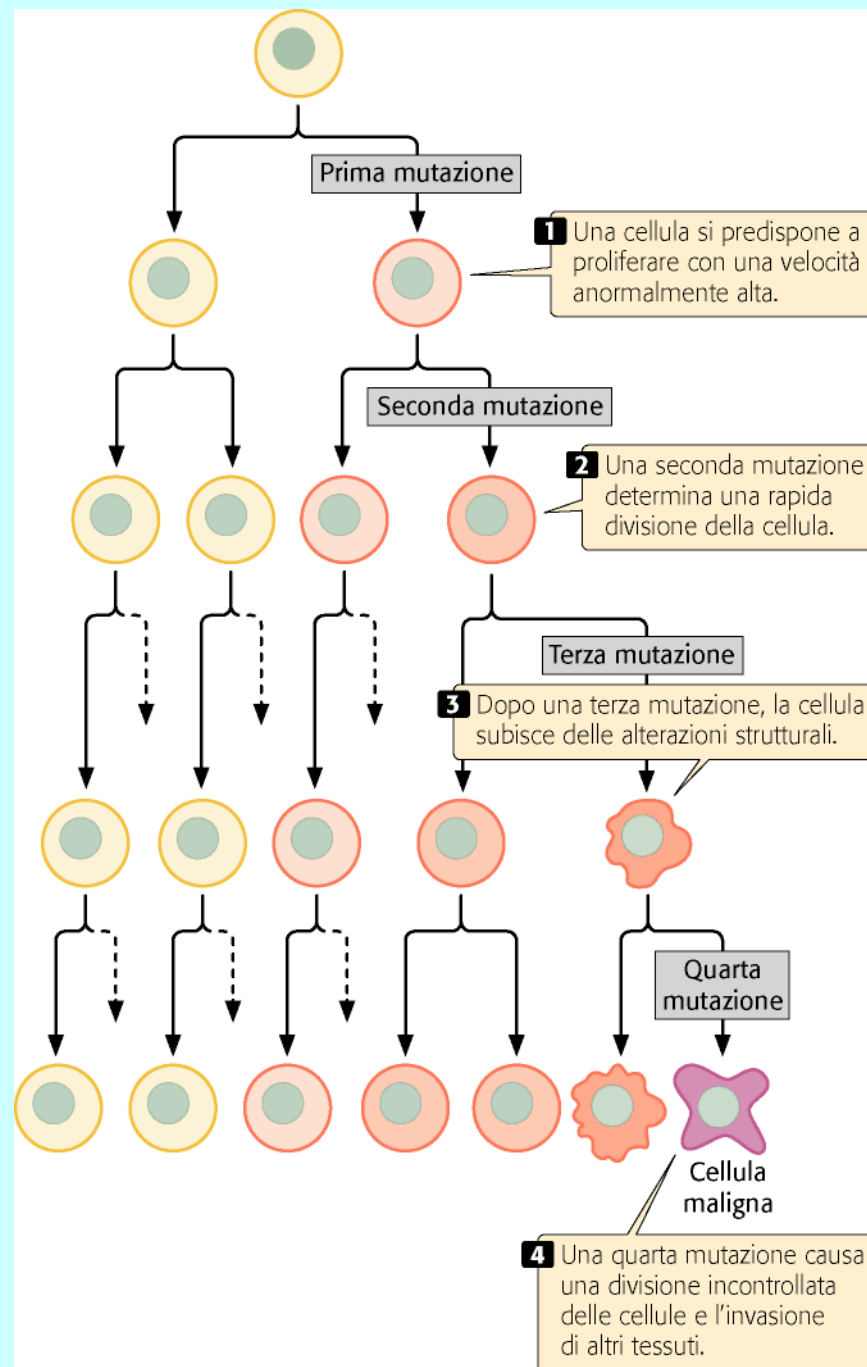
10^{13} cellule/persona

Probabilità: $10^{13} \times (10^{-7})^{6} = 1: 10^{29}$

Combinazione di due meccanismi

1. Alcune m. aumentano la proliferazione cell, creando una popolazione espansa di cellule nella quale si verifica la m. successiva

2. Altre m. intaccano la stabilità dell'intero genoma, sia a livello di DNA che cromosomico, facendo aumentare il tasso di m. complessivo

Evoluzione clonale dei tumori

Pierce BA 2005

Il modello di Fearon e Vogelstein per lo sviluppo del carcinoma colorettale – MODELLO oncogenesi MULTISTEP

Gelerther-Collins-Ginsburg 1999